

実験的ストレス潰瘍とフリーラジカルに関する研究

著者	渋谷 大助
号	947
発行年	1986
URL	http://hdl.handle.net/10097/19791

氏 名（本籍）	しお 波	や 屋	だい 大	すけ 助
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	博	第 9 4 7	号
学位授与年月日	昭 和 6 1 年 3 月 2 5 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当			
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学研究科 (博士課程) 内科学系専攻			
学 位 論 文 題 目	実験的ストレス潰瘍とフリーラジカルに関する研究			

(主 査)

論文審査委員 教授 後 藤 由 夫 教授 涌 井 昭

教授 石 森 章

論文内容要旨

目 的

急性胃粘膜病変の成因については、ストレス時における自律神経系を介しての粘膜血流の低下が重要とされている。近年、虚血組織におけるフリーラジカルの役割が注目されている。そこで、急性胃粘膜病変の発生とフリーラジカルの関係を調べるために、モルモットを用い、水浸拘束潰瘍とアスコルベートラジカルの関係及び各種ラジカルスカベンジャーの投与による影響を検討した。

方 法

体重450～500 gのHartley雄性モルモット90匹を15匹づつ6群に分けた。

I 無処置群：対照(c)群，拘束3時間(3h)群，拘束6時間(6h)群5匹づつに分けた。対照群は絶食18時間後に屠殺採血した。拘束群は絶食15時間後に1匹のスペースが6×6×22cmの金網箱に入れ，水温23℃の浴槽に胸骨部まで水浸し，3時間，6時間後にモルモットを取り出し，エーテル麻酔下に開腹し，下大静脈より採血した。血液は流動パラフィンで密封後暗所で保存し血清を分離した。採血後胃を摘出し，噴門，十二指腸を結紮し，胃内腔に1%ホルマリン25mlを入れて1時間固定後大弯切開にて潰瘍係数を測定した。潰瘍係数は線状潰瘍はその長さを，円形潰瘍は長径と短径を測定し，各潰瘍の長さを集計し1mmを潰瘍係数1とした。点状潰瘍は1個を潰瘍係数1とした。潰瘍係数の測定は3回行ない。その平均を算出した。血清アスコルビン酸量はAOVC法に準じて行なった。血清アスコルベートラジカルはVarian E-E 109 EPEスペクトロメーターX bandを使用し，石英製aqueous flat cellを用い室温で測定した。

II VEプラセボ群：VEプラセボとしてエーザイ社製Ea-0160-106，20mg/kgを水浸拘束15時間前に腹腔内に1回投与した後，1群と同様の実験を行なった。

III VC群：アスコルビン酸1gを1ℓの水に溶かし，1週間連日投与した後，I群と同様の実験を行なった。

IV VE群：VEとしてエーザイ社製Ea-0160-006，20mg/kgを用い，II群と同様の実験を行なった。

V VC+VE群：III群と同様にVCを投与した後，IV群と同様の実験を行なった。

VI DMSO群：Cochranの方法に準じ，水浸拘束負荷15時間前に胃管にてDMSO(sigma社製)を1～2ml投与し，I群と同様の実験を行なった。

さらにVCの量と効果の関係をみるために拘束負荷直前に腹腔にVCを0.1mg，1.0mg，10mgを

5匹づつ投与し、4時間水浸拘束負荷を行ない同様の検討をした。有意差の検定には student の t 検定を行なった。

成 績

無処置群の潰瘍係数は 3h 群で 62.60 ± 33.89 ，6h 群で 102.80 ± 37.59 と経時的に増加した。アスコルベートラジカルの $K/[H^+]$ 値は，c 群，3h 群，6h 群が $0.62 \pm 0.71 \times 10^{-6}$ ， $1.45 \pm 0.26 \times 10^{-6}$ ， $2.42 \pm 1.33 \times 10^{-6}$ と経時的に増加し，潰瘍係数と $K/[H^+]$ 値とは有意の正の相関 ($R = 0.6459$ ， $p < 0.05$) があった。VC 群では潰瘍係数が 3h 群，6h 群で 13.20 ± 13.29 ， 34.20 ± 17.45 ，と無処置群に比べて潰瘍の発生が有意に減少した。 $K/[H^+]$ 値も c 群，3h 群，6h 群が $0.79 \pm 0.77 \times 10^{-6}$ ， $0.68 \pm 0.27 \times 10^{-6}$ ， $0.55 \pm 0.44 \times 10^{-6}$ ，と $K/[H^+]$ 値の上昇が完全に抑制された。

VE プラセボ群は潰瘍係数が 3h 群，6h 群で 70.60 ± 28.50 ， 87.00 ± 17.91 ， $K/[H^+]$ 値が c 群，3h 群，6h 群で $1.65 \pm 1.00 \times 10^{-6}$ ， $1.24 \pm 1.29 \times 10^{-6}$ ， $1.70 \pm 0.90 \times 10^{-6}$ であった。VE 群は潰瘍係数が 3h 群，6h 群で 15.80 ± 11.12 ， 27.80 ± 0.49 ， $K/[H^+]$ 値は c 群，3h 群，6h 群で 1.86 ± 0.99 ， 10 ， $1.36 \pm 0.56 \times 10^{-6}$ ， $1.23 \pm 0.49 \times 10^{-6}$ であり，VE 群はプラセボ群に比し有意に潰瘍の発生の抑制をみたが， $K/[H^+]$ 値は両者とも c 群で高く有意差はみられなかった。 $K/[H^+]$ 値はフリーラジカルの増加以外の要素でも上昇すると考えられる。VC + VE 群，DM SO 群でも同様の結果が得られたが，DM SO 群は潰瘍発生の抑制効果が他のラジカルスカベンジャーにより弱かった。

考 察 及 び 結 論

生体内のフリーラジカルを測定する場合，血液を用いるのがもっとも簡便であり，さらに血清の方が血球がないため資料として単純である。現在，生体へ曝露するフリーラジカルの程度を知るためには血清で安定したアスコルベートラジカルを測定し， $K/[H^+]$ 値を計算するのが最も良い方法と考えられるのでこの方法を用いた。

モルモットの水浸拘束潰瘍を使った実験では潰瘍の発生と $K/[H^+]$ 値とが極めて良く相関し，急性潰瘍発生とフリーラジカルの増加とは密接な関係があることが明らかとなった。また，VC，VE などのラジカルスカベンジャーの投与によって潰瘍発生が抑制され， $K/[H^+]$ 値の上昇も抑制された。これから次の結論が得られた。(1)実験的ストレス潰瘍にはフリーラジカルが原因の一つとして関与している。これは血清 $K/[H^+]$ 値に反映される。(2)ラジカルスカベンジャーは潰瘍の抑制には有効であるが完全ではなく，潰瘍の発生には他の因子も関与していると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

この研究は急性胃粘膜病変の発生とフリーラジカルの関係を明かにするために、体内でアスコルビン酸を生成しないモルモットを用い、水浸拘束潰瘍の発生をアスコルベートラジカルの関係及び各種ラジカルスカベンジャーの投与による潰瘍抑制効果を検討したものである。

方法としては体重 450 ～ 500 g の Hartley 雄性モルモット 90 匹を 15 匹ずつ (1) 無処置群, (2) V E プラセボ群, (3) V E 群, (4) V C 群, (5) V C + V E 群, (6) DMSO (dimethylsulfoxide) 群の 6 群に分け, (2)(3)(5) では水浸負荷 15 時間前に V E, プラセボ 20 mg/kg を腹腔内に 1 回投与, (4)(5) は 1 g/l の V C 水を 1 週間投与, (6) は負荷 15 時間前に DMSO を胃管にて 1 ～ 2 ml 投与した。いずれも 15 時間絶食後 5 匹ずつ 6 × 6 × 22 cm の金網箱に入れ, 23°C の水で 3 時間と 6 時間の寒冷拘束負荷を与えた。負荷後屠殺し, 血清アスコルベートラジカル及び潰瘍係数を測定しつつの成績を得ている。

無処置群の潰瘍係数の平均値は 3 時間群 (浸水時間 3 時間), 6 時間群で 62.6, 102.8 と経時的に増加した。アスコルベートラジカルの $K/[H^+]$ 値は対照群, 3 時間群, 6 時間群の平均値はそれぞれ 0.62×10^{-6} , 1.45×10^{-6} , 2.42×10^{-6} と経時的に増加し, 潰瘍係数と $K/[H^+]$ 値とは有意の正の相関 ($R = 0.6459$, $P < 0.05$) がみられた。V C 群では潰瘍係数が 3 時間群, 6 時間群で 13.2, 34.2 と無処置群に比べて潰瘍の発生が有意に減少した。 $K/[H^+]$ 値は対照, 3 時間, 6 時間群で 0.79×10^{-6} , 0.68×10^{-6} , 0.55×10^{-6} と $K/[H^+]$ 値の上昇も完全に抑制された。V E プラセボ群は潰瘍係数が 3 時間, 6 時間群で 70.6, 87.0, $K/[H^+]$ 値が対照, 3 時間, 6 時間群で 1.65×10^{-6} , 1.24×10^{-6} , 1.70×10^{-6} であった。V E 群は潰瘍係数が 3 時間, 6 時間群でそれぞれ 15.8, 27.8, $K/[H^+]$ 値が対照, 3 時間, 6 時間群でそれぞれ 1.86×10^{-6} , 1.36×10^{-6} , 1.23×10^{-6} であり, V E 群はプラセボ群に比して有意に潰瘍の発生をみたが, $K/[H^+]$ 値は両者とも対照群で高く有意差はみられなかった。V C + V E 群, DMSO 群でも同様の結果が得られた。

以上の実験でモルモットの水浸拘束潰瘍では, 潰瘍の発生とアスコルベートラジカルの $K/[H^+]$ 値とが極めて良く相関し, ラジカルスカベンジャーの投与によって潰瘍の発生や $K/[H^+]$ 値の上昇が抑制されることにより, 急性潰瘍の発生にはフリーラジカルが関連すると結論している。

この研究は消化性潰瘍の発生機構に新知見を加えたものであり, 学位授与に値する。